

一步法凝胶制备试剂盒（10%）

产品货号：26137

产品规格：125T

产品简介：

聚丙烯酰胺凝胶电泳 (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS~PAGE)其原理在于聚丙烯酰胺凝胶为网状结构,具有分子筛效应,它有两种形式:非变性聚丙烯酰胺凝胶及 SDS~聚丙烯酰胺凝胶(SDS~PAGE);非变性聚丙烯酰胺凝胶蛋白质能够保持完整状态,并依据蛋白质的分子量大小、蛋白质的形状及其所附带的电荷量而逐渐呈梯度分开,主要用于分离蛋白质和寡核苷酸。

一步法凝胶制备试剂盒(10%)经改良优化,把所需的 Tris-HCl、丙烯酰胺、SDS 等预混于分离胶缓冲液(下层胶)和浓缩胶缓冲液(上层胶)中,可直接配制 10%的分离胶和 5%的浓缩胶溶液,使用前按比例加入过硫酸铵和 TEMED 灌入玻璃板,操作简单。利用本试剂盒配置的预制胶,可高效兼容传统的电泳液及转膜液。本试剂盒可配制 0.75mm 厚的 mini PAGE 胶 125 块、1.0mm 厚的 PAGE 胶约 90 块或 1.5mm 厚的 PAGE 胶约 60 块,10%的分离胶最佳分离范围是 20~80kD。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

试剂包装：

| 试剂名称 | 125T | 保存条件 |
|--------------------|--------|--------|
| 试剂(A): 下层胶预混液(10%) | 500ml | 4℃, 避光 |
| 试剂(B): 上层胶预混液 | 200ml | 4℃, 避光 |
| 试剂(C): APS | 2×0.5g | 室温, 避光 |
| 试剂(D): TEMED | 2ml | 4℃, 避光 |

自备材料：

1. 垂直电泳装置
2. 移液器

操作步骤(仅供参考)：

1. 配制 10%过硫酸铵：直接在 0.5g APS 中加入 5ml 蒸馏水,充分溶解,分装成小份储存于-20℃或 4℃。注意：一般用 1.5ml EP 管分装成 0.5~1ml 每支,每支使用 2~3 次即弃用；-20℃保存,通常半年内有效,4℃保存,1 周有效。
2. 将玻璃板固定好,并确定不会漏液,按照下表配制一块不同厚度的 10%的分离胶(下层胶),取适量的混匀分离胶缓冲液倒入玻璃板中,加入 1ml 左右的蒸馏水以压平液面。注意：过硫酸铵和 TEMED 严格按照推荐量加入,且应充分混匀。

| 凝胶厚度 | 0.75mm | 1.0mm | 1.5mm |
|---------|--------|-------|-------|
| 下层胶预混液 | 2.0ml | 2.7ml | 4.0ml |
| 10%过硫酸铵 | 20μl | 27μl | 40μl |
| TEMED | 2μl | 2.7μl | 4μl |

3. 倒出蒸馏水,按照下表配制一块不同厚度的 5%的浓缩胶(上层胶),取适量的混匀浓缩胶缓冲液倒入玻璃板中。注意：过硫酸铵和 TEMED 严格按照推荐量加入,且应充分混匀。

| 凝胶厚度 | 0.75mm | 1.0mm | 1.5mm |
|--------|--------|-------|-------|
| 下层胶预混液 | 1.0ml | 1.5ml | 2.0ml |



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

| | | | |
|---------|------------|-------------|------------|
| 10%过硫酸铵 | 10 μ l | 15 μ l | 20 μ l |
| TEMED | 1 μ l | 1.5 μ l | 2 μ l |

- 缓缓插入梳子，为确保分离胶液~浓缩胶界面更加整齐，插入梳子后可轻轻抬起制胶架的一端然后轻轻放下，使缓冲液有个缓慢的移动，从而界面更加整齐。
- 室温放置 30min 直至胶凝固，也可以将制备好的胶连同玻璃板和梳子，装入到自封袋、PE 手套或其他致密性较好的塑料膜，加入 2~3ml 蒸馏水，并用封口机封口，此凝胶可在 4 $^{\circ}$ C 避光保存 3~6 个月。
- 电泳：静置，待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，避免破坏加样孔；加入 Tris-甘氨酸电泳缓冲液(含 15~20%甲醇)；将待测蛋白与蛋白上样缓冲液混合，煮沸 5~10min 后加入样品孔；将电泳槽置于 4 $^{\circ}$ C 或冰水浴中电泳，进行后续的考马斯亮蓝染色或电转。

注意事项：

- 下层胶预混液和上层胶预混液中含有 Acr-Bis，对人体有毒，操作时请特别小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 过硫酸铵配制成 10%溶液后应当-20 $^{\circ}$ C 保存，应尽量减少室温存放时间以防失效；有效避免失效的方法是分成小份，-20 $^{\circ}$ C 保存，用 2~3 次，剩余的弃用，亦可 4 $^{\circ}$ C 保存几天。
- TEMED 易挥发，使用后请盖紧瓶盖。另外凝胶凝聚的速度和温度及光照关系密切，可通过适当调节 TEMED 的用量，控制在不同的室内环境下凝胶凝聚的速度。
- 冬天室温较低时，可以自行额外添加少量 TEMED 以促进凝胶凝固；室温在 20 $^{\circ}$ C 以上时通常不需要再额外添加 TEMED；室温较低，可以置于 37 $^{\circ}$ C 放置，加速凝固。
- TEMED 易燃，有腐蚀性，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或腐蚀其他物品。
- 配好的凝胶如果当天不能使用，可在 4 $^{\circ}$ C 保存 1~2 天。
- 该试剂盒仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：6 个月有效；常温运输，4 $^{\circ}$ C 保存。

附录：不同浓度的 SDS-PAGE 分离胶的最佳分离范围：

| SDS~PAGE 分离胶浓度 | 最佳分离范围 |
|----------------|----------|
| 6%胶 | 50~150kD |
| 8%胶 | 30~90kD |
| 10%胶 | 20~80kD |
| 12%胶 | 12~60kD |
| 15%胶 | 10~40kD |



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com